

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-252751

(43)Date of publication of application : 10.09.2003

(51)Int.Cl.

A61K 9/52
A61K 38/22
A61K 47/10
A61K 47/18
A61K 47/26
A61K 47/34
A61K 47/42
A61P 13/08
A61P 15/00
A61P 15/18
A61P 35/00

(21)Application number : 2002-374330

(71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 25.12.2002

(72)Inventor : NUNOFUJI TOMOYASU
YAMAMOTO KAZUMICHI
ARAI TSUGIICHI

(30)Priority

Priority number : 2001394663 Priority date : 26.12.2001 Priority country : JP

(54) NEW MICROSPHERE AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a microsphere having excellent dispersibility.

SOLUTION: The method for producing the microsphere having the improved dispersibility involves adding an osmotic pressure regulator to the outer water phase when producing the microsphere by drying method in water.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-252751
(P2003-252751A)

(43) 公開日 平成15年9月10日 (2003.9.10)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
A 6 1 K 9/52		A 6 1 K 9/52	4 C 0 7 6
38/22		47/10	4 C 0 8 4
47/10		47/18	
47/18		47/26	
47/26		47/34	
審査請求 未請求 請求項の数29 O L (全 19 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願2002-374330 (P2002-374330)	(71) 出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22) 出願日	平成14年12月25日 (2002. 12. 25)	(72) 発明者	布藤 智康 大阪府池田市住吉1丁目5-1-509
(31) 優先権主張番号	特願2001-394663 (P2001-394663)	(72) 発明者	山本 一路 京都府京都市中京区河原町通り二条上がる 清水町341番-11-1109号
(32) 優先日	平成13年12月26日 (2001. 12. 26)	(74) 代理人	100114041 弁理士 高橋 秀一 (外1名)
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 新規マイクロスフェアおよびその製造法

(57) 【要約】

【課題】分散性に優れたマイクロスフェアの提供。

【解決手段】水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造時に、外水相に浸透圧調節剤を添加することを特徴とする、分散性が改善されたマイクロスフェアの製造法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造時に、外水相に浸透圧調節剤を添加することを特徴とする、分散性が改善されたマイクロスフェアの製造法。

【請求項2】改善された分散性が、約400から約700mgのマイクロスフェアを1.5mLの注射用分散媒に2分未満で分散できる程度である、請求項1記載の製造法。

【請求項3】水中乾燥法にW/O/W型乳化物を用いる請求項1記載の製造法。

【請求項4】内水相にさらに薬物保持物質を含ませる請求項3記載の製造法。

【請求項5】水中乾燥法にO/W型乳化物を用いる請求項1記載の製造法。

【請求項6】水中乾燥法にS/O/W型乳化物を用いる請求項1記載の製造法。

【請求項7】生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を、浸透圧調節剤を含有した外水相に分散させて水中乾燥法に付することを特徴とするマイクロスフェアの製造法。

【請求項8】乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約10重量%以下である、請求項7記載の製造法。

【請求項9】乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、請求項7記載の製造法。

【請求項10】乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下である、請求項7記載の製造法。

【請求項11】乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下である、請求項7記載の製造法。

【請求項12】乳酸重合体またはその塩の重量平均分子量が15000～40000のものである、請求項7記載の製造法。

【請求項13】乳酸重合体またはその塩の重量平均分子量が17000～26000のものである、請求項7記載の製造法。

【請求項14】浸透圧調節剤が、アルコール類、糖類、アミノ酸類、ペプチド類、タンパク質類、水溶性アミノ酸の塩、もしくはその誘導体またはこれらの混合物である、請求項1または7記載の製造法。

【請求項15】浸透圧調節剤がマンニトールである、請求項1または7記載の製造法。

【請求項16】浸透圧調節剤の外水相中の濃度が、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50～約5倍となる濃度である請求項1または7記載の製造法。

【請求項17】生理活性物質が水溶性の生理活性物質である請求項7記載の製造法。

【請求項18】生理活性物質が生理活性ペプチドである

請求項7記載の製造法。

【請求項19】生理活性物質がLH-RH誘導体である請求項7記載の製造法。

【請求項20】LH-RH誘導体が式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

〔式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NaIまたはDHis(ImBzl)を示し、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂を示す。〕で表されるペプチドまたはその塩である請求項7記載の製造法。

【請求項21】請求項1または7記載の製造法によって得られるマイクロスフェア。

【請求項22】請求項21記載のマイクロスフェアを含有してなる徐放性組成物。

【請求項23】前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防、治療用または避妊用である請求項22の徐放性組成物。

【請求項24】注射用である請求項22記載の徐放性組成物。

【請求項25】さらにマンニトールを含有する請求項22記載の徐放性組成物。

【請求項26】組成物全体に対してマイクロスフェアを約70重量%以上含有する請求項22記載の徐放性組成物。

【請求項27】哺乳動物に対して、請求項22記載の徐放性組成物の有効量を投与することを特徴とする前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防・治療方法または避妊方法。

【請求項28】分散性が改善されたマイクロスフェアを製造するために、生理活性物質またはその塩と高分子重合体を含む乳化物を水中乾燥する際に、外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする方法。

【請求項29】分散性が改善されたマイクロスフェアの製造するための、生理活性物質またはその塩と高分子重合体を含む乳化物を水中乾燥する際の外水相における、浸透圧調節剤の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、分散性が改善されたマイクロスフェア、その製造法および該マイクロスフェアを含有する徐放性組成物などに関する。

【0002】

【従来の技術】生体内分解性ポリマーを用い、W/O型乳化物から徐放性マイクロスフェアを製造する方法は、例えば特許文献1～3などに記載されている。また、徐放性を有する生体内分解性ポリマーは、例えば生理活性物質を内包させるためのマイクロスフェア等の基材として有用である。このような生体内分解性ポリマーとして、ポリ乳酸、乳酸とグリコール酸との共重合体を含むもの

等(特許文献4等)が有用であることが知られている。これら生体内分解性ポリマーは従来の合成法によって作られたものをそのまま用いていたが、合成されたものそのままでは末端カルボキシル基量が少ないために徐放性基材としての有用性に乏しいことが判ってきた。そこで、上記の如き生体内分解性ポリマーであって高分子量のもを加水分解処理し、重量平均分子量を適当なものとした後に徐放性製剤用基材として使用することが検討された。しかしながら、加水分解処理、水洗して得られたものは、適当な重量平均分子量と末端カルボキシル基量を有するものであっても、初期バーストを起こしやすく徐放性基材としては不適当なものであった。そのため、その改良が要望されている現状にある。特許文献5には、生理活性ペプチドまたはその塩と末端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーとからなる徐放性製剤およびその製造法が開示されている。しかしながら、これらの文献にはマイクロスフェアの分散性を向上させる方法は記載されていない。

【0003】

【特許文献1】特開昭57-118512号公報

【特許文献2】特開昭57-150609号公報

【特許文献3】特開平6-145046号公報

【特許文献4】特開平11-269094号公報

【特許文献5】特開平7-97334号公報

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、分散性が改善されたマイクロスフェア、その製造法などを提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の課題に鑑み鋭意研究を行った結果、水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造法において、外水相に浸透圧調節剤を存在させることにより、予想外にも製造されたマイクロスフェアの分散性が著しく改善されることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、

(1) 水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造時に、外水相に浸透圧調節剤を添加することの特徴とする、分散性が改善されたマイクロスフェアの製造法；

(2) 改善された分散性が、約400から約700mgのマイクロスフェアを1.5mLの注射用分散媒に2分未満で分散できる程度である、前記(1)記載の製造法；

(3) 水中乾燥法にW/O/W型乳化物を用いる前記(1)記載の製造法；

(4) 内水相にさらに薬物保持物質を含ませる前記(3)記載の製造法；

(5) 水中乾燥法にO/W型乳化物を用いる前記(1)記載の製造法；

(6) 水中乾燥法にS/O/W型乳化物を用いる前記(1)

記載の製造法；

(7) 生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、重量平均分子量15000~50000の乳酸重合体またはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を、浸透圧調節剤を含有した外水相に分散させて水中乾燥法に付することを特徴とするマイクロスフェアの製造法；

(8) 乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約10重量%以下である、前記(7)記載の製造法；

(9) 乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、前記(7)記載の製造法；

(10) 乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下である、前記(7)記載の製造法；

(11) 乳酸重合体またはその塩における重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下である、前記(7)記載の製造法；

(12) 乳酸重合体またはその塩の重量平均分子量が15000~40000のものである、前記(7)記載の製造法；

(13) 乳酸重合体またはその塩の重量平均分子量が17000~26000のものである、前記(7)記載の製造法；

(14) 浸透圧調節剤が、アルコール類、糖類、アミノ酸類、ペプチド類、タンパク質類、水溶性アミノ酸の塩、もしくはその誘導体またはこれらの混合物である、前記(1)または(7)記載の製造法；

(15) 浸透圧調節剤がマンニトールである、前記(1)または(7)記載の製造法；

(16) 浸透圧調節剤の外水相中の濃度が、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50~約5倍となる濃度である前記(1)または(7)記載の製造法；

(17) 生理活性物質が水溶性の生理活性物質である前記(7)記載の製造法；

(18) 生理活性物質が生理活性ペプチドである前記(7)記載の製造法；

(19) 生理活性物質がLH-RH誘導体である前記(7)記載の製造法；

(20) LH-RH誘導体が式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

【式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NaIまたはDHis(ImBzl)を示し、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂を示す。】で表されるペプチドまたはその塩である前記

(7)記載の製造法；

(21) 前記(1)または(7)記載の製造法によって得られるマイクロスフェア；

(22) 前記(21)記載のマイクロスフェアを含有してなる徐放性組成物；

(23) 前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防、治療用または避妊用である前記(22)の徐放

性組成物；

(24) 注射用である前記(22)記載の徐放性組成物；

(25) さらにマンニトールを含有する前記(22)記載の徐放性組成物；

(26) 組成物全体に対してマイクロスフェアを約70重量%以上含有する前記(22)記載の徐放性組成物；

(27) 哺乳動物に対して、前記(22)記載の徐放性組成物の有効量を投与することを特徴とする前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防・治療方法または避妊方法；

(28) 分散性が改善されたマイクロスフェアを製造するために、生理活性物質またはその塩と高分子重合物を含む乳化物を水中乾燥する際に、外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする方法および

(29) 分散性が改善されたマイクロスフェアの製造するための、生理活性物質またはその塩と高分子重合物を含む乳化物を水中乾燥する際の外水相における、浸透圧調節剤の使用などを提供する。さらに本発明は、

(30) 生理活性物質またはその塩と重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩とを含有することを特徴とする分散性が改善されたマイクロスフェア；

(31) 上記(30)記載のマイクロスフェアを含有する約400から約700mgの徐放性組成物を1.5mlの分散媒で2分未満で分散する上記(30)記載のマイクロスフェア；

(32) 水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造時に外水相に浸透圧調節剤を存在させて製造され得る、上記(30)記載のマイクロスフェア；

(33) 水中乾燥法がW/O/W型である上記(32)記載の徐放性組成物；

(34) 水中乾燥法がO/W型である上記(32)記載の徐放性組成物；

(35) 水中乾燥がS/O/W型である上記(32)記載の徐放性組成物；

(36) 生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を浸透圧調節剤を含有した水相に分散させて水中乾燥法に付して製造され得る、上記(30)記載のマイクロスフェア；

(37) 乳酸重合体が、重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下のものである上記(30)記載のマイクロスフェア；

(38) 乳酸重合体が、重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下のものである上記

(30)記載のマイクロスフェア；

(39) 乳酸重合体が、重量平均分子量が15000～40000のものである上記(30)記載のマイクロスフェア；

(40) 乳酸重合体が、重量平均分子量が17000～26000のものである上記(30)記載のマイクロスフェア；

(41) 生理活性物質が水溶性の生理活性物質である上記(30)記載のマイクロスフェア；

(42) 生理活性物質が生理活性ペプチドである上記

(41)記載のマイクロスフェア；

(43) 生理活性物質がLH-RH誘導体である上記(41)記載のマイクロスフェア；

(44) LH-RH誘導体が式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

[式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalまたはDHis(ImBzl)を示し、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂を示す。]で表されるペプチドである上記(43)記載のマイクロスフェア；

(45) 浸透圧調節剤の外相中の濃度が、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50～約5倍となる程度である上記(32)～(36)記載のマイクロスフェア；

(46) 浸透圧調節剤がアルコール類、糖類、アミノ酸類、ペプチド類、タンパク質類、水溶性アミノ酸の塩、もしくはその誘導体またはこれらの混合物である上記(32)～(36)記載のマイクロスフェア；

(47) アルコール類が多価アルコール類または一価アルコール類である上記(43)記載のマイクロスフェア；

(48) 多価アルコール類がグリセリン、アラビトール、キシリトール、アドニトール、マンニトール、ソルビトール、ズルシトールまたはこれらの混合物である上記(47)記載のマイクロスフェア；

(49) 一価アルコール類がメタノール、エタノール、イソプロピルアルコールまたはこれらの混合物である上記(47)記載のマイクロスフェア；

(50) 糖類が単糖類、二糖類、オリゴ糖もしくはその誘導体またはこれらの混合物である上記(46)記載のマイクロスフェア；

(51) 単糖類がアラビノース、キシロース、リボース、2-デオキシリボース、ブドウ糖、果糖、ガラクトース、マンノース、ソルボース、ラムノースまたはフコースである上記(50)記載のマイクロスフェア；

(52) 二糖類が麦芽糖、セロビオース、 α 、 α -トレハロース、乳糖またはショ糖である上記(50)記載のマイクロスフェア；

(53) オリゴ糖がマルトトリオース、ラフィノース糖またはスタキオースである上記(50)記載のマイクロスフェア；

(54) 単糖類、二糖類またはオリゴ糖の誘導体がグルコサミン、ガラクトサミン、グルクロン酸またはガラクトツロン酸である上記(50)記載のマイクロスフェア；

(55) アミノ酸類がグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、システイン、メチオニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニンまたはヒスチジンである上記(46)記載のマイクロスフェア；

(56) 水溶性アミノ酸の塩がグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、システイン、メチオニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニンまたはヒスチジンの酸またはアルカリ金属との塩である上記(46)記載のマイクロスフェア；

(57) 浸透圧調節剤がマンニトールである上記(32)～(36)記載のマイクロスフェア；

(58) さらに薬物保持物質を含有する上記(30)記載のマイクロスフェア；

(59) 薬物保持物質がアルブミン、ゼラチン、サリチル酸、クエン酸またはエチレンジアミン四酢酸ナトリウムである上記(58)記載のマイクロスフェア；

(60) 分散媒が分散剤、保存剤、等張化剤または植物油である上記(31)記載のマイクロスフェア；

(61) マイクロスフェアの分散性を改善させるために、水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造時に外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする分散性が改善されたマイクロスフェアの製造法；

(62) 水中乾燥法による生理活性物質またはその塩と重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩とを含有するマイクロスフェアの製造時に外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする当該マイクロカプセルの製造法；

(63) 水中乾燥法がW/O/W型である上記(62)記載の製造法；

(64) 水中乾燥法がO/W型である上記(62)記載の製造法；

(65) 水中乾燥がS/O/W型である上記(62)記載の製造法；

(66) 生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を浸透圧調節剤を含有した水相に分散させて水中乾燥法に付することを特徴とする、生理活性物質またはその塩と重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下である、重量平均分子量15000～50000の乳酸重合体またはその塩とを含有す

るマイクロスフェアの製造法；

(67) 浸透圧調節剤の外相中の濃度が、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50～約5倍となる程度である上記(66)記載の製造法；

(68) 内水相にさらに薬物保持物質を含ませる上記

(66)記載の製造法；

(69) 上記(30)記載のマイクロスフェアを含有してなる徐放性組成物；

(70) 上記(43)記載のマイクロスフェアを含有してなる前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防、治療用徐放性組成物または避妊用徐放性組成物；

(71) 注射用である上記(69)または(70)記載の徐放性組成物；

(72) さらにマンニトールを含有する上記(69)～(71)記載の徐放性組成物；

(73) 組成物全体に対してマイクロスフェアを約70重量%以上含有する上記(69)～(72)記載の徐放性組成物；

(74) 哺乳動物に対して、上記(43)記載のマイクロスフェアまたはそれを含有してなる徐放性組成物の有効量を投与することを特徴とする前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防・治療方法または避妊方法；

(75) 生理活性物質またはその塩と高分子重合体またはその塩とを含有するマイクロスフェアであって、該マイクロスフェアを含有する約400から約700mgの徐放性組成物を1.5mLの分散媒で2分未満で分散する長期徐放型マイクロスフェア；

(76) 高分子重合体またはその塩が重量平均分子量10000～50000の乳酸重合体またはその塩である上記(75)記載のマイクロスフェア；

(77) 上記(75)または(76)記載のマイクロスフェアを含有する徐放性組成物；

(78) 水中乾燥法による生理活性物質またはその塩と高分子重合体とを含有するマイクロスフェアの製造法において、外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする当該マイクロスフェアの分散性を改善させる方法；

(79) 生理活性物質またはその塩と高分子重合体とを含有するマイクロスフェアを含有する注射用組成物における当該マイクロカプセルの分散性を改善させる目的で、水中乾燥法による当該マイクロカプセルの製造法において、外水相に浸透圧調節剤を存在させることを特徴とする当該注射用組成物におけるマイクロスフェアの分散性を改善させる方法；

(80) 生理活性物質またはその塩と高分子重合体とを含有するマイクロスフェアを含有する注射用組成物にお

ける分散性が改善した当該マイクロスフェアの製造のために、水中乾燥法による当該マイクロカプセルの製造法における外水相に浸透圧調節剤を使用する方法；

(81) 生理活性物質またはその塩と高分子重合物を含有するマイクロスフェアを含有する注射用組成物における分散性が改善した当該マイクロスフェアの製造のための、水中乾燥法による当該マイクロカプセルの製造法における外水相での浸透圧調節剤の使用および

(82) 浸透圧調節剤を含有することを特徴とする、水中乾燥法における外水相で使用するためのマイクロカプセルの分散性改善剤などを提供する。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明で用いられる生理活性物質としては、親水性が強く、水とn-オクタノールとの油水分配率の小さいものが用いられる。油水分配率の小さいものとしては、例えば、n-オクタノール/水溶解度の比が1以下のものが好ましく、なかでも0.1以下のものがより好ましい。油水分配率の測定は、「物理化学実験法」鮫島実三郎著、裳華房刊、昭和36年に記載された方法に従えばよい。すなわち、まず試験管中にn-オクタノールおよびpH5.5の緩衝液(1対1の等量混合物)を入れる。該緩衝液としてはたとえばゼーレンゼン(Sørensen)緩衝液[Ergeb. Physiol. 12, 393(1912)]、クラークルプス(Clark-Lubs)緩衝液[J. Bact. 2, (1), 109, 191(1917)]、マクイベイン(MacIvaine)緩衝液[J. Biol. Chem. 49, 183(1921)]、ミカエリス(Michaelis)緩衝液[Die Wasser-stoffionenkonzentration, p.186(1914)]、コルソフ(Kolthoff)緩衝液[Biochem. Z. 179, 410(1926)]などが挙げられる。これに薬物を適宜量投入し、さらに栓をして恒温槽(25℃)に浸し、しばしば強く振盪する。そして薬物が両液層間に溶解、平衡に達したと思われる頃、液を静置あるいは遠心分離し、上下各層より別々にピペットにて一定量の液をとり出し、これを分析して各層の中における薬物の濃度を決定し、n-オクタノール層中の薬物の濃度/水層中の薬物の濃度の比をとれば、油水分配率となる。

【0007】該生理活性物質としては、特に限定されないが、生理活性物質、抗腫瘍剤、抗生物質、解熱、鎮痛、消炎剤、鎮咳去痰剤、鎮静剤、筋弛緩剤、抗てんかん剤、抗潰瘍剤、抗うつ剤、抗アレルギー剤、強心剤、不整脈治療剤、血管拡張剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、抗凝血剤、止血剤、抗結核剤、ホルモン剤、麻薬拮抗剤、骨吸収抑制剤、血管新生抑制剤などが挙げられる。本発明で用いられる生理活性物質は、薬理学的に有用なものであれば特に限定を受けないが、非ペプチド化合物でもペプチド化合物でもよい。非ペプチド化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、酵素阻害作用を有する化合物などがあげられる。また、ペプチド化合物

としては、例えば、生理活性ペプチドが好ましく、分子量約300~約40,000、好ましくは約400~約30,000、さらに好ましくは約500~約20,000の生理活性ペプチドなどが好適である該生理活性ペプチドとしては、例えば、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LH-RH)、インスリン、ソマトスタチン、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン(GH-RH)、プロラクチン、エリスロポイエチン、副腎皮質ホルモン、メラノサイト刺激ホルモン、甲状腺ホルモン放出ホルモン(TRH)、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、バソプレシン、オキシトシン、カルシトニン、ガストリン、セクレチン、パングレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、エンケファリン、エンドルフィン、キョウトルフィン、タフトシン、サイモポイエチン、サイモシン、サイモチムリン、胸腺液性因子、血中胸腺因子、腫瘍壊死因子、コロニー誘導因子、モチリン、デイノルフィン、ボンベシン、ニューロテンシン、セルレイン、ブラジキニン、心房性ナトリウム排泄増加因子、神経成長因子、細胞増殖因子、神経栄養因子、エンドセリン拮抗作用を有するペプチド類などおよびその誘導体、さらにはこれらのフラグメントまたはフラグメントの誘導体などが挙げられる。

【0008】該生理活性ペプチドの好ましい例としては、LH-RH誘導体であって、ホルモン依存性疾患、特に性ホルモン依存性癌(例、前立腺癌、子宮癌、乳癌、下垂体腫瘍など)、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、月経困難症、無月経症、月経前症候群、多房性卵巣症候群等の性ホルモン依存性の疾患および避妊(もしくは、その休業後のリバウンド効果を利用した場合には、不妊症)に有効なLH-RH誘導体またはその塩が挙げられる。さらに性ホルモン非依存性であるがLH-RH感受性である良性または悪性腫瘍などに有効なLH-RH誘導体またはその塩も挙げられる。LH-RH誘導体またはその塩の具体例としては、例えば、トリートメントウイズ GnRH アナログ: コントラバーシス アンド パースペクティブ(Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives) [パルテノン パブリッシング グループ(株) (The Parthenon Publishing Group Ltd.)発行1996年]、特表平3-503165号公報、特開平3-101695号、同7-97334号および同8-259460号公報などに記載されているペプチド類が挙げられる。

【0009】LH-RH誘導体としては、LH-RHアゴニストまたはLH-RHアンタゴニストが挙げられるが、LH-RHアンタゴニストとしては、例えば、一般式〔I〕

X-D2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-A-B-Leu-C-Pro-DAlaNH₂
〔式中、XはN(4H₂-furoyl)GlyまたはNacを、AはNMeTy

r、Tyr、Aph(Atz)、NMeAph(Atz)から選ばれる残基を、BはDLys(Nic)、DCit、DLys(AzaglyNic)、DLys(AzaglyFur)、DhArg(Et₂)、DAph(Atz)およびDhCi から選ばれる残基を、CはLys(Nisp)、ArgまたはhArg(Et₂)をそれぞれ示す]で表わされる生理活性ペプチドまたはその塩などが用いられる。

LH-RHアゴニストとしては、例えば、一般式〔II〕5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

〔式中、YはDLeu、DAIa、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅または

Gly-NH₂をそれぞれ示す]で表わされる生理活性ペプチドまたはその塩などが用いられる。特に、YがDLeuで、ZがNH-C₂H₅であるペプチド(即ち、5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅で表されるペプチドA; リュープロレリン)またはその塩(例、酢酸塩)が好適である。これらのペプチドは、前記文献あるいは公報記載の方法あるいはこれに準じる方法で製造することができる。

【0010】本明細書中で使用される略号の意味は次のとおりである。

略号	名称
N(4H ₂ -furoyl)Gly	: N-テトラヒドロフロイルグリシン残基
Nac	: N-アセチル基
D2Nal	: D-3-(2-ナフチル)アラニン残基
D4ClPhe	: D-3-(4-クロロ)フェニルアラニン残基
D3Pal	: D-3-(3-ピリジル)アラニン残基
NMeTyr	: N-メチルチロシン残基
Aph(Atz)	: N-[5'-(3'-アミノ-1'H-1',2',4'-トリアゾリル)]フェニルアラニン残基
NMeAph(Atz)	: N-メチル-[5'-(3'-アミノ-1'H-1',2',4'-トリアゾリル)]フェニルアラニン残基
DLys(Nic)	: D-(ε-N-ニコチノイル)リシン残基
DCit	: D-シトルリン残基
DLys(AzaglyNic)	: D-(アザグリシルニコチノイル)リシン残基
DLys(AzaglyFur)	: D-(アザグリシルフラニル)リシン残基
DhArg(Et ₂)	: D-(N,N'-ジエチル)ホモアルギニン残基
DAph(Atz)	: D-N-[5'-(3'-アミノ-1'H-1',2',4'-トリアゾリル)]フェニルアラニン残基
DhCi	: D-ホモシトルリン残基
Lys(Nisp)	: (ε-N-イソプロピル)リシン残基
hArg(Et ₂)	: (N,N'-ジエチル)ホモアルギニン残基

その他アミノ酸に関し、略号で表示する場合、IUPAC-IU Bコミッション・オブ・バイオケミカル・ノーメンクレチャー(Commission on Biochemical Nomenclature)(ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・バイオケミストリー(European Journal of Biochemistry)第138巻、9~37頁(1984年))による略号または該当分野における慣用略号に基づくものとし、また、アミノ酸に関して光学異性体がありうる場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

【0011】また、生理活性を有するペプチドとしては、LH-RH拮抗物質(米国特許第4,086,219号、同第4,124,577号、同第4,253,997号、同第4,317,815号参照)が挙げられる。また、さらに生理活性を有するペプチドとしては、たとえばインスリン、ソマトスタチン、ソマトスタチン誘導体(米国特許第4,087,390号、同第4,093,574号、同第4,100,117号、同第4,253,998号参照)、成長ホルモン、プロラクチン、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、メラノサイト刺激ホルモン(M

SH)、甲状腺ホルモン放出ホルモン[(Pyr)Glu-His-ProNH₂の構造式で表わされ、以下TRHと略記することもある]その塩およびその誘導体(特開昭50-121273号、特開昭52-116465号公報参照)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、バソプレシン、バソプレシン誘導体{デモプレシン〔日本内分泌学会雑誌、第54巻第5号第676~691頁(1978)〕参照}、オキシトシン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン、グルカゴン、ガストリン、セクレチン、バンクレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)、エンケファリン、エンケファリン誘導体〔米国特許第4,277,394号、ヨーロッパ特許出願公開第31567号公報参照〕、エンドルフィン、キョウトルフィン、インターフェロン類(例、α型、β型、γ型等)、インターロイキン類(例、I、II、III等)、タフトシン、サイモボイエチン、サイモシン、サイモスチムリン、胸腺液性因子(THF)、血中胸腺因子(FT

S) およびその誘導体(米国特許第4,229,438号参照), およびその他の胸腺因子〔医学のあゆみ, 第125巻, 第10号, 835-843頁(1983年)〕, 腫瘍壊死因子(TNF), コロニー誘発因子(CSF), モチリン, ダイノルフィン, ボムベシン, ニューロテンシン, セルレイン, プラディキニン, ウロキナーゼ, アスバラギナーゼ, カリクレイン, サブスタンスP, 神経成長因子, 細胞増殖因子, 神経栄養因子, 血液凝固因子の第VIII因子, 第IX因子, 塩化リゾチーム, ポリミキシンB, コリスチン, グラミシジン, バシトラシンおよびエリスロポエチン(EPO), エンドセリン拮抗作用を有するペプチド類(ヨーロッパ特許公開第436189号, 同第457195号, 同第496452号, 特開平3-94692号, 同3-130299号公報参照)などが挙げられる。

【0012】上記抗腫瘍剤としては、ブレオマイシン, メソトレキセート, アクチノマイシンD, マイトマイシンC, 硫酸ビンブラスチン, 硫酸ビンクリスチン, ダウノルビシン, アドリアマイシン, ネオカルチノスタチン, シトシンアラビノシド, フルオロウラシル, テトラヒドロフリル-5-フルオロウラシル, クレスチン, ビシバニール, レンチナン, レバミゾール, ベスタチン, アジメキソン, グリチルリチン, ポリI:C, ポリA:U, ポリICLCなどが挙げられる。上記抗生物質としては、例えばゲンタマイシン, ジベカシン, カネドマイシン, リビドマイシン, トブラマイシン, アミカシン, フラジオマイシン, シソマイシン, 塩酸テトラサイクリン, 塩酸オキシテトラサイクリン, ロリテトラサイクリン, 塩酸ドキシサイクリン, アンピシリン, ビペラシリン, チカルシリン, セファロチン, セファロジン, セフォチアム, セフスロジン, セフメノキシム, セフメタゾール, セファゾリン, セフォタキシム, セフォペラゾン, セフチゾキシム, モキサラクタム, チエナマイシン, スルファゼシン, アズスレオナムなどが挙げられる。上記の解熱, 鎮痛, 消炎剤としては、サリチル酸, スルピリン, フルフェナム酸, ジクロフェナック, インドメタシン, モルヒネ, 塩酸ベチジン, 酒石酸レボルファノール, オキシモルフォンなどが挙げられる。鎮咳去痰剤としては、塩酸エフェドリン, 塩酸メチルエフェドリン, 塩酸ノスカピン, リン酸コデイン, リン酸ジヒドロコデイン, 塩酸アロクラマイド, 塩酸クロフェダノール, 塩酸ピコペリダミン, クロベラスチン, 塩酸プロトクロール, 塩酸イソプロテレノール, 硫酸サルブタモール, 硫酸テルブタリンなどが挙げられる。鎮静剤としては、クロルプロマジン, プロクロルペラジン, トリフロペラジン, 硫酸アトロピン, 臭化メチルスコポラミンなどが挙げられる。筋弛緩剤としては、メタンサルホン酸アリジノール, 塩化ツボクラリン, 臭化バンクロニウムなどが挙げられる。抗てんかん剤としては、フェニトイン, エトサキシミド, アセタゾラミドナトリウム,

クロルジアゼポキシドなどが挙げられる。抗潰瘍剤としては、メトクロプロミド, 塩酸ヒスチジンなどが挙げられる。抗うつ剤としては、イミプラミン, クロミプラミン, ノキシアチリン, 硫酸フェネルジンなどが挙げられる。抗アレルギー剤としては、塩酸ジフェンヒドラミン, マレイン酸クロルフェニラミン, 塩酸トリベレナミン, 塩酸メトジラジン, 塩酸クレミゾール, 塩酸ジフェニルピラリン, 塩酸メトキシフェナミンなどが挙げられる。

【0013】強心剤としては、トランスバイオキソカンファー, テオフィロール, アミノフィリン, 塩酸エチレフリンなどが挙げられる。不整脈治療剤としては、プロプラノール, アルブレンロール, プフェトロール, オキシプロノロールなどが挙げられる。血管拡張剤としては、塩酸オキシフェドリン, ジルチアゼム, 塩酸トラゾリン, ヘキソベンジン, 硫酸バメタンなどが挙げられる。降圧利尿剤としては、ヘキサメトニウムプロミド, ベントリニウム, 塩酸メカミルアミン, 塩酸エカラジン, クロニジンなどが挙げられる。糖尿病治療剤としては、グリミジンナトリウム, グリピザイド, 塩酸フェンフォルミン, 塩酸ブフォルミン, メトフォルミンなどが挙げられる。抗凝血剤としては、ヘパリンナトリウム, クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。止血剤としては、トロンボプラスチン, トロンビン, メナジオン亜硫酸水素ナトリウム, アセトメナフトン, ϵ -アミノカプロン酸, トラネキサム酸, カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム, アドレノクロムモノアミノグアニジンメタンサルホン酸塩などが挙げられる。抗結核剤としては、イソニアジド, エタンブトール, パラアミノサリチル酸などが挙げられる。ホルモン剤としては、アレドニゾロン, リン酸ナトリウムアレドニゾロン, デキサメタゾン硫酸ナトリウム, ベタメタゾンリン酸ナトリウム, リン酸ヘキサステロール, 酢酸ヘキサステロール, メチマゾールなどが挙げられる。麻薬拮抗剤としては、酒石酸レバロルファン, 塩酸ナロルフィン, 塩酸ナロキソンなどが挙げられる。骨吸収抑制剤としては、(硫黄含有アルキル)アミノメチレンビスフォスホン酸などが挙げられる。血管新生抑制剤としては、血管新生抑制ステロイド〔サイエンス(Science)第221巻719頁(1983年)参照〕, フマギリン(ヨーロッパ特許公開第325199号公報参照), フマギロール誘導体(ヨーロッパ特許公開第357061号, 同第359036号, 同第386667号, 同第415294号公報参照)などが挙げられる。

【0014】本発明で用いられる生理活性物質それ自身であっても、薬理学的に許容される塩であってもよい。このような塩としては、該生理活性物質がアミノ基等の塩基性基を有する場合、無機酸(無機の遊離酸とも称する)(例、炭酸、重炭酸、塩酸、硫酸、硝酸、ホウ酸等)、有機酸(有機の遊離酸とも称する)(例、コハク

酸、酢酸、プロピオン酸、トリフルオロ酢酸等)などとの塩が挙げられる。生理活性物質がカルボキシル基等の酸性基を有する場合、無機塩基(無機の遊離塩基とも称する)(例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など)や有機塩基(有機の遊離塩基とも称する)(例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等)などとの塩が挙げられる。また、生理活性ペプチドは金属錯体化合物(例、銅錯体、亜鉛錯体等)を形成していてもよい。

【0015】本発明に用いられる高分子重合物としては、水に難溶または不溶で、生体内適合性(生体内分解性)である高分子重合物を示す。水に難溶とは、該高分子重合物の水に対する溶解度が0より大きく約3%以下、より好ましくは水に対する溶解度が0より大きく約1%(W/W)以下であることを意味する。これら生体内分解性ポリマーは、重量平均分子量が約10000から50000、好ましくは約15000から50000、さらに好ましくは約15000から40000、特に好ましくは約17000から26000のものが用いられる。また、生体内分解性ポリマーの分散度は約1.2から4.0が、特に約1.5から3.5が好ましい。なお、本明細書で用いられる重量平均分子量および分散度は、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC: Gel Permeation Chromatography)で測定した値を意味する。これら高分子重合物の使用量は、生理活性物質またはその塩の薬理活性の強さと、生理活性物質またはその塩放出の速度および期間などによって決まり、例えば、生理活性物質またはその塩に対して約0.5~10,000倍(重量比)の量で調製されるが、好ましくは約1~100倍(重量比)の量の重合物をマイクロスフェア基剤として用いるのがよい。かかる高分子重合物としては、例えば、生体内分解性の高分子重合物が好ましく、例えば脂肪族ポリエステル〔例えば α -ヒドロキシ酸類(例、グリコール酸、乳酸、2-ヒドロキシ酪酸、2-ヒドロキシ吉草酸、2-ヒドロキシ-3-メチル酪酸、2-ヒドロキシカプロン酸、2-ヒドロキシイソカプロン酸、2-ヒドロキシカプリル酸等)、 α -ヒドロキシ酸の環状二量体類(例、グリコリド、ラクチド等)、ヒドロキシジカルボン酸類(例、リンゴ酸)、ヒドロキシトリカルボン酸(例、クエン酸)等の単独重合体(例、乳酸重合体等)または2種以上の共重合体(例えば、乳酸/グリコール酸共重合体、2-ヒドロキシ酪酸/グリコール酸共重合体等)、あるいはこれら単独重合体および/または共重合体の混合物(例、乳酸重合体と2-ヒドロキシ酪酸/グリコール酸共重合体との混合物等)〕、ポリ- α -シアノアクリル酸エステル、ポリアミノ酸(例、ポリ- γ -ベンジル-L-グルタミン酸、ポリ-L-アラニン、ポリ- γ -メチル-L-グルタミン酸等)、無水マレイン酸系共重合体(例、スチレン/マレイン酸共

重合体等)等が挙げられる。これらの中で脂肪族ポリエステル、ポリ- α -シアノアクリル酸エステルが好ましい。さらに、脂肪族ポリエステルが特に好ましい。

【0016】脂肪族ポリエステルの中で α -ヒドロキシ酸類、 α -ヒドロキシ酸の環状二量体類の単独重合体、または2種以上の共重合体、あるいはこれら単独重合体および/または共重合体の混合物が好ましい。さらに、 α -ヒドロキシ酸類の単独もしくは共重合体、またはこれら単独重合体および/または共重合体の混合物が特に好ましい。上記 α -ヒドロキシ酸類、 α -ヒドロキシ酸の環状二量体類、ヒドロキシジカルボン酸類、ヒドロキシトリカルボン酸類が分子内に光学活性中心を有する場合、D-、L-、DL-体のいずれも用いることができる。上記脂肪族ポリエステルは、公知の製造法(例えば、特開昭61-28521号公報参照)で問題なく製造できる。また、重合の形式は、ランダム、ブロック、グラフトのいずれでもよい。脂肪族ポリエステルの重量平均分子量は約10000から50000、好ましくは約15000から50000、さらに好ましくは約15000から40000、特に好ましくは約17000から26000である。また、脂肪族ポリエステルの分散度は、好ましくは約1.2から4.0、特に好ましくは約1.5から3.5である。

【0017】上記脂肪族ポリエステルとして、乳酸/グリコール酸共重合体を用いる場合、その組成比は約10/0~約50/50(重量比)が好ましく、2-ヒドロキシ酪酸/グリコール酸共重合体を用いる場合、その組成比は約10/0~約25/75(重量比)が好ましい。乳酸重合体、乳酸/グリコール酸共重合体、2-ヒドロキシ酪酸/グリコール酸共重合体の重量平均分子量は約15000から50000のものが好ましく、さらに約15000から40000のものが特に好ましい。上記脂肪族ポリエステルとして例えば乳酸重合体(A)とグリコール酸/2-ヒドロキシ酪酸共重合体(B)との混合物を用いる場合、(A)/(B)で表される混合比が約10/90から約90/10(重量比)の範囲で使用される。好ましくは約25/75から約75/25(重量比)の範囲である。乳酸重合体の重量平均分子量は約15000から50000のものが好ましく、さらに約15000から40000のものが特に好ましい。グリコール酸/2-ヒドロキシ酪酸共重合体は、その組成が、グリコール酸が約40から70モル、残りが2-ヒドロキシ酪酸であるものが好ましい。グリコール酸/2-ヒドロキシ酪酸共重合体の重量平均分子量は約15000から50000のものが好ましく、さらに約15000から40000のものが特に好ましい。

【0018】なかでも、本発明に用いられる高分子重合物としては乳酸重合体(以下、本発明の乳酸重合体と略記する場合がある)が好ましく、例えば、乳酸のみから

成る重合体、或いは乳酸とその他のモノマー（例えばグリコール酸等）との共重合体を含み、通常重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約10重量%以下、好ましくは通常重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下、より好ましくは重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下、さらに好ましくは重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下、さらにより好ましくは重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下であり且つ重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下、最も好ましくは重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下、重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下であり且つ重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下のものが用いられる。また、本発明の乳酸重合体の重量平均分子量は通常15000～50000、好ましくは15000～40000、より好ましくは17000～26000、特に好ましくは17500～25500である。

【0019】本発明の乳酸重合体の原料となる高分子量の乳酸重合体は、市販品でも公知の方法で重合したものでもよく、その重量平均分子量は通常15000～50000、好ましくは20000～100000である。公知の重合方法としては、例えば、乳酸及び要すればグリコール酸とを縮重合させる方法、例えばラクチドを、要すればグリコリドと共に、例えばジエチル亜鉛、トリエチルアルミニウム、オクチル酸スズ等のルイス酸又は金属塩等の触媒を用いて開環重合させる方法、前記方法に更にカルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸誘導体を存在させてラクチドを開環重合させる方法（例えば特許国際公開W000/35990等）、その他ラクチドに加熱下で触媒を添加して開環重合させる方法（例えばJ. Med. Chem, 16, 897(1973)等）、例えばラクチドとグリコリドとを共重合させる方法等が挙げられる。重合形態としては、ラクチド等を溶融させて重合反応に付すバルク重合、ラクチド等を適当な溶媒に溶解して重合反応に付す溶液重合が挙げられるが、中でも溶液重合によって得られる重合体を本発明の乳酸重合体の原料として使用することが工業生産上好ましい。溶液重合においてラクチドを溶解する溶媒としては、例えばベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、デカリン、ジメチルホルムアミド等が挙げられる。

【0020】上記の如くして得られた高分子量の乳酸重合体を加水分解するには、自体公知の加水分解方法が用いられ、例えば該高分子量の乳酸重合体を適当な溶媒に溶解した後、水及び要すれば酸を加えて反応させればよい。高分子量の乳酸重合体を溶解する溶媒としては、乳酸重合体の10重量倍以下の量で該重合体を溶解し得るものであればよく、具体的には、例えばクロロホルム、ジクロロメタン等のハロゲン化炭化水素、例えばトルエ

ン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレン等の芳香族炭化水素、例えばテトラヒドロフラン等の環状エーテル、アセトン、*N,N*-ジメチルホルムアミド等が挙げられる。尚、高分子量の乳酸重合体の重合時に、高分子量の乳酸重合体の加水分解で使用する溶媒を用いた場合には、重合した高分子量の乳酸重合体を単離せず、重合及び加水分解の操作を連続して行うことができる。高分子量乳酸重合体を溶解する溶媒の使用量は、溶質である乳酸重合体に対して通常0.1～100倍、好ましくは1～10倍である。添加する水の量は、高分子量乳酸重合体に対して通常0.001～1倍重量、好ましくは0.01～0.1倍重量である。必要に応じて添加する酸としては、例えば塩酸、硫酸、硝酸等の無機酸、例えば乳酸、酢酸、トリフルオロ酢酸等の有機酸等が挙げられ、好ましくは乳酸が挙げられる。添加する酸の量は、高分子量乳酸重合体に対して通常0～10倍重量、好ましくは0.1～1倍重量である加水分解反応温度は、通常0～150℃、好ましくは20～80℃である。加水分解反応時間は、高分子量の乳酸重合体の重量平均分子量及び反応温度によっても異なり、通常10分～100時間、好ましくは1～20時間である。加水分解処理の終了時期は、加水分解生成物の重量平均分子量に基づいて判断する。即ち、加水分解処理中に適宜サンプリングを行い、サンプル中の加水分解生成物の重量平均分子量をゲルパーミエーションクロマトグラフィー（GPC）により測定し、当該分子量が約15000～50000、好ましくは約15000～30000、より好ましくは約17000～26000、特に好ましくは17500～25500となっていることが確認できたら加水分解処理を停止させる。

【0021】上記の如く高分子量の乳酸重合体を加水分解する操作に付すことにより得られる、加水分解生成物を含有する溶液から、そこに含有される目的の乳酸重合体を析出させる方法としては、該加水分解生成物含有溶液を、そこに含有される目的の乳酸重合体を析出させ得る溶媒と接触させる方法等が挙げられる。加水分解生成物含有溶液の好ましい態様としては、例えばクロロホルム、ジクロロメタン等のハロゲン化炭化水素、例えばトルエン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレン等の芳香族炭化水素、例えばテトラヒドロフラン等の環状エーテル、アセトン、*N,N*-ジメチルホルムアミド等ジクロロメタンやキシレン等の高分子量乳酸重合体を溶解する溶媒に、重量平均分子量15000～50000、好ましくは15000～30000、より好ましくは17000～26000、特に好ましくは17500～25500の乳酸重合体が約10～50wt%溶解しているもの等が挙げられる。加水分解生成物含有溶液中に含有される目的の乳酸重合体を析出させ得る溶媒としては、例えばメタノール、エタノール等のアルコール類、例えばイソプロピルエーテル等の鎖状エーテル類、

例えばヘキサン等の脂肪族炭化水素、水等が挙げられる。

【0022】目的とする乳酸重合体を析出させ得る溶媒の使用量は、加水分解生成物含有溶液の溶媒に対して通常0.1～100倍重量、好ましくは1～10倍重量である。この様な各溶媒の種類と使用量の組み合わせの好ましい具体例としては、例えば溶質の1～5倍重量のジクロロメタンを溶媒として用いられている加水分解生成物含有溶液に、溶解度を低下させる溶媒としてイソプロピルエーテルを、該ジクロロメタンに対して2～10倍重量使用する態様等が挙げられる。目的の乳酸重合体溶質を析出させ得る溶媒を加水分解生成物含有溶液に接触させる際の、溶媒の温度は、通常-20～60℃、好ましくは0～40℃であり、加水分解生成物含有溶液の温度は通常0～40℃、好ましくは10～30℃である。溶媒と加水分解生成物含有溶液とを接触させる方法としては、加水分解生成物含有溶液を溶媒中に一度に加える方法、加水分解生成物含有溶液を溶媒中に滴下する方法、溶媒を加水分解生成物含有溶液中に一度に加える方法、或いは溶媒を加水分解生成物含有溶液中に滴下する方法等が挙げられる。上記のようにして得られた本発明の乳酸重合体は、末端カルボキシル基量が徐放性製剤用基材として好ましい範囲にあるため、徐放性製剤用基材として好ましいものである。さらに、生体適合性の高分子重合体としては、例えば、ポリスチレン、ポリメタアクリル酸、アクリル酸とメタアクリル酸との共重合体、ポリアミノ酸、デキストランステアレート、エチルセルロース、アセチルセルロース、ニトロセルロース、無水マレイン酸系共重合体、エチレンビニルアセテート系共重合体、ポリビニルアセテート、ポリアクリルアミドなどが用いられる。これらの高分子重合体は一種でもよく、また2種以上の共重合体あるいは単なる混合物でもよく、またその塩でもよい。油相中の高分子重合体の濃度は、約0.5～約90% (W/W)、さらに好ましくは約2～約60% (W/W) である。

【0023】本発明で用いられる薬物保持物質としては、例えば、アルブミン、ゼラチン、クエン酸、サリチル酸、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム、デキストリン、亜硫酸水素ナトリウム、ポリエチレングリコールなどのポリオール化合物、寒天、アルギン酸、ポリビニルアルコール、塩基性アミノ酸などが用いられる。

【0024】本発明のマイクロスフェアは、水中乾燥法、好ましくは(W/O)/W型水中乾燥法、O/W型水中乾燥法またはS/O/W型水中乾燥法を用いて製造することができる。(W/O)/W型水中乾燥法の場合、生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、高分子重合体を含む溶液を油相としてW/O型乳化物をつくり、該乳化物を浸透圧調節剤を含有した水相に分散させて(W/O)/W型乳化物をつくり水中乾燥法に付し、油相中の溶媒を除去することにより生理活性物質ま

たはその塩および高分子重合体を含有するマイクロスフェアを製造することができ、O/W型水中乾燥法の場合、生理活性物質またはその塩と高分子重合体とからなる油相を浸透圧調節剤を含有した水相に分散させてO/W型乳化物をつくり水中乾燥法に付し、油相中の溶媒を除去することにより生理活性物質またはその塩および高分子重合体を含有するマイクロスフェアを製造する。S/O/W型水中乾燥法の場合、生理活性物質またはその塩を高分子重合体を含む溶液である油相に分散し、これを浸透圧調節剤を含有した水相に分散させてS/O/W型乳化物をつくり水中乾燥法に付し、油相中の溶媒を除去することにより生理活性物質またはその塩および高分子重合体を含有するマイクロスフェアを製造する。

【0025】本発明に用いられる浸透圧調節剤としては、水溶液とした場合、浸透圧を示すものであればいかなる物質であってもよい。該浸透圧調節剤としては、例えば、多価アルコール類、一価アルコール類などのアルコール類；単糖類、二糖類、オリゴ糖などの糖類；水溶性のアミノ酸、ペプチド、タンパク質類；水溶性アミノ酸の塩；またはそれらの誘導体などが用いられる。上記の多価アルコール類としては、例えば、グリセリン等の三価アルコール類、アラビトール、キシリトール、アドニトール等の五価アルコール類、マンニトール、ソルビトール、ズルシトール等の六価アルコール類などが用いられる。なかでも、六価アルコール類が好ましく、特にマンニトールが好適である。上記の一価アルコール類としては、例えば、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコールなどがあげられ、このうちエタノールが好ましい。上記の単糖類としては、例えば、アラビノース、キシロース、リボース、2-デオキシリボース等の五炭糖類、ブドウ糖、果糖、ガラクトース、マンノース、ソルボース、ラムノース、フコース等の六炭糖類が用いられ、このうち六炭糖類が好ましい。上記の二糖類としては、麦芽糖、セロビオース、 α 、 α -トレハロース、乳糖、ショ糖などが用いられる。これらのうち乳糖、ショ糖が好ましい。上記のオリゴ糖としては、例えば、マルトトリオース、ラフィノース糖等の三糖類、スタキオース等の四糖類などが用いられ、このうち三糖類が好ましい。上記の単糖類、二糖類およびオリゴ糖の誘導体としては、例えば、グルコサミン、ガラクトサミン、グルクロン酸、ガラクトツロン酸などが用いられる。

【0026】上記のアミノ酸類としては、L-体のものであればいずれも用いることができ、例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、システイン、メチオニン等の中性アミノ酸；アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性アミノ酸；リジン、アルギニン、ヒスチジン等の塩基性アミノ酸などが用いられる。なかでも、グリシン、ロイシン、アルギニンなどが好ましく用

いられ、特にＬ－アルギニンが好ましい。また、これらの水溶性アミノ酸の塩、例えば水溶性アミノ酸の酸（例、塩酸、硫酸、リン酸等）またはアルカリ（例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属等）との塩を用いてもよい。水溶性のペプチド類、タンパク質類またはそれらの誘導体としては、例えば、カゼイン、グロブリン、プロラミン、アルブミン、ゼラチンなどが用いられる。これらの浸透圧調節剤は単独で使用しても、混合して使用してもよい。

【0027】生理活性物質またはその塩の使用量は、薬物の種類、所望の薬理効果および効果の持続時間などにより異なるが、内水相中の濃度としては、約0.001%～約90%（W/W）、より好ましくは約0.01%～約80%（W/W）であり、特に好ましくは約0.01%～約70%（W/W）である。浸透圧調節剤は、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50～約5倍、好ましくは約1/25～約3倍、さらに好ましくは約1/12～約2倍となる濃度で用いられる。具体的には、浸透圧調節剤の外水相での濃度は、浸透圧調節剤が非イオン性物質の場合、約0.01%～約60%（W/W）、好ましくは約0.01～約40%（W/W）、より好ましくは約0.05～約30%（W/W）、特に好ましくは約0.5～約1.5%（W/W）である。また、浸透圧調節剤がイオン性物質の場合、上記の濃度を全体のイオン価で除した濃度が用いられる。浸透圧調節剤の添加濃度は、溶解度以下である必要はなく、一部が分散状態であってもよい。本願発明において、外水相に浸透圧調節剤を添加することにより、製造されたマイクロスフェアの分散性を改善させることができ、その程度は特に限定されないが、例えば、約400から700mgのマイクロスフェアを1.5mLの注射用分散媒に2分未満で分散できることが好ましい。

【0028】以下に、本発明の（W/O）/W型水中乾燥法によるマイクロスフェアの製造法を説明する。以下の製造工程中、必要に応じて、内水相に以下のものを添加してもよい。

（1）薬物保持剤

アルブミン、ゼラチン、クエン酸、サリチル酸、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム、デキストリン、亜硫酸水素ナトリウム、ポリエチレングリコールなどのポリオール化合物、寒天、アルギン酸、ポリビニルアルコール、塩基性アミノ酸など。

（2）生理活性物質またはその塩の安定性、溶解性を保つためのpH調整剤

炭酸、酢酸、シュウ酸、クエン酸、リン酸、塩酸、水酸化ナトリウム、アルギニン、リジンおよびそれらの塩など。

（3）生理活性物質またはその塩の安定化剤

アルブミン、ゼラチン、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム、デキストリン、亜硫酸水素ナトリウ

ム、ポリエチレングリコールなどのポリオール化合物など。

（4）保存剤

パラオキシ安息香酸エステル類（メチルパラベン、プロピルパラベンなど）、ベンジルアルコール、クロロブタノール、チメロサルなど。

【0029】（I）O/W法

本方法においては、まず高分子重合物の有機溶媒溶液を作製する。本発明のマイクロスフェアの製造の際に使用する有機溶媒は、沸点が120℃以下であることが好ましい。該有機溶媒としては、例えば、ハロゲン化炭化水素（例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素等）、エーテル類（例、エチルエーテル、イソプロピルエーテル等）、脂肪酸エステル（例、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、アルコール類（例えば、エタノール、メタノール等）、アセトニトリルなどが用いられる。なかでもハロゲン化炭化水素が好ましく、特にジクロロメタンが好適である。また、これらは適宜の割合で混合して用いてもよい。その場合は、ハロゲン化炭化水素とアルコール類との混液が好ましく、特にジクロロメタンとエタノールとの混液が好適である。高分子重合物の有機溶媒溶液中の濃度は、高分子重合物の分子量、有機溶媒の種類によって異なるが、例えば、ジクロロメタンを有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは約2～約50重量%から選ばれる。また、ジクロロメタンとの混有機溶媒としてエタノールを用いた場合の両者の比率は、一般的には約0.01～約50%（v/v）、より好ましくは約0.05～約40%（v/v）、特に好ましくは約0.1～約30%（v/v）から選ばれる。このようにして得られた高分子重合物の有機溶媒溶液中に、生理活性物質またはその塩を添加し、溶解あるいは分散させる。この際、生理活性物質またはその塩の添加量は、生理活性物質またはその塩：高分子重合物の重量比の上限が約1：1まで、好ましくは約1：2までとなるようにする。

【0030】次いで、得られた生理活性物質またはその塩および高分子重合物から成る組成物を含む有機溶媒溶液を水相中に加え、O（油相）/W（水相）エマルジョンを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロスフェアを調製する。この際の水相体積は、一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。上記の外水相中には、前記した浸透圧調節剤の他に、乳化剤を加えてもよい。該乳化剤は、一般に安定なO/Wエマルジョンを形成できるものであればいずれでもよい。具体的には、例えば、アニオン性界面活性剤（オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、非

イオン性界面活性剤（ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル〔ツイーン(Tween)80、ツイーン(Tween)60、アトラスパウダー社〕、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体〔HCO-60、HCO-50、日光ケミカルズ〕など）、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、レシチン、ゼラチン、ヒアルロン酸などが用いられる。これらの中の1種類か、いくつかを組み合わせ使用してもよい。使用の際の濃度は、好ましくは約0.01～10重量%の範囲で、さらに好ましくは約0.05～約5重量%の範囲で用いられる。

【0031】有機溶媒を除去する方法としては、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、プロペラ型攪拌機またはマグネチックスターラーなどで攪拌しながら常圧もしくは徐々に減圧にして有機溶媒を蒸発させる方法、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法などがあげられる。このようにして得られたマイクロスフェアは遠心分離または濾過して分取した後、マイクロスフェアの表面に付着している遊離の生理活性物質、乳化剤などを蒸留水で数回繰り返し洗浄し、再び蒸留水などに分散して凍結乾燥する。製造工程中、粒子同士の凝集を防ぐために凝集防止剤を加えてもよい。該凝集防止剤としては、例えば、マンニトール、ラクトース、ブドウ糖、デンプン類（例、コーンスターチ等）などの水溶性多糖、グリシンなどのアミノ酸、フィブリン、コラーゲンなどのタンパク質などが用いられる。なかでも、マンニトールが好適である。マンニトール等の凝集防止剤の添加量は、マイクロスフェア全体に対して、通常0～約24重量%である。

【0032】また、凍結乾燥後、必要であれば、減圧下マイクロスフェア同士が融着しない条件下で加温してマイクロスフェア中の水分および有機溶媒の除去を行ってもよい。好ましくは、毎分10～20℃の昇温速度の条件下で示差走査熱量計で求めた高分子重合物の中間点ガラス転移温度付近あるいはそれよりも若干高い温度で加温する。より好ましくは高分子重合物の中間点ガラス転移温度付近あるいはそれよりも約30℃高い温度範囲内で加温する。とりわけ、高分子重合物として乳酸-グリコール酸重合体を用いる場合には好ましくはその中間点ガラス転移温度付近あるいはそれよりも10℃高い温度範囲、さらに好ましくは、中間点ガラス転移温度付近あるいはそれよりも5℃高い温度範囲で加温する。加温時間はマイクロスフェアの量などによって異なるものの、一般的にはマイクロスフェア自体が所定の温度に達した後、約12時間～約168時間、好ましくは約24時間～約120時間、特に好ましくは約48時間～約96時間である。加温方法は、マイクロスフェアの集合が均一に加温できる方法であれば特に限定されない。該加温乾燥方法としては、例えば、恒温槽、流動槽、移動槽またはキルン中で加温乾燥する方法、マイクロ波で加温乾燥

する方法などが用いられる。なかでも恒温槽中で加温乾燥する方法が好ましい。

【0033】(II) W/O/W法

まず、高分子重合物の有機溶媒溶液を作る。該有機溶媒としては、例えば、ハロゲン化炭化水素（例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素等）、エーテル類（例、エチルエーテル、イソプロピルエーテル等）、脂肪酸エステル（例、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、アルコール類（例えば、エタノール、メタノール等）、アセトニトリルなどが用いられる。なかでも、ハロゲン化炭化水素が好ましく、特にジクロロメタンが好適である。これらは適宜の割合で混合して用いてもよい。その場合は、ハロゲン化炭化水素とアルコール類の混液が好ましく、特にジクロロメタンとエタノールとの混液が好適である。高分子重合物の有機溶媒溶液中の濃度はその分子量、有機溶媒の種類によって異なるが、例えば、ジクロロメタンを有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは約2～約50重量%から選ばれる。

【0034】次いで、高分子重合物の有機溶媒溶液（油相）に生理活性物質またはその塩またはその塩の溶液〔該溶媒としては、水、水とアルコール類（例、メタノール、エタノール等）の混液〕を添加する。この混合物をホモジナイザーまたは超音波等の公知の方法で乳化し、W/Oエマルジョンを形成させる。次いで、得られた生理活性物質またはその塩および高分子重合物から成るW/Oエマルジョンを水相中に加え、W（内水相）/O（油相）/W（外水相）エマルジョンを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロスフェアを調製する。この際の外水相体積は一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製法は前記（I）項に記載と同様である。上記の外水相中には乳化剤を加えてもよい。該乳化剤は、一般に安定なO/Wエマルジョンを形成できるものであればいずれでもよい。具体的には、例えば、アニオン性界面活性剤（オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、非イオン性界面活性剤（ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル〔ツイーン(Tween)80、ツイーン(Tween)60、アトラスパウダー社〕、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体〔HCO-60、HCO-50、日光ケミカルズ〕など）、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、レシチン、ゼラチン、ヒアルロン酸などが用いられる。これらの中の1種類か、いくつかを組み合わせ使用してもよい。使用の際の濃度は、好ましくは約0.01～10重量%の範囲

で、さらに好ましくは約0.05～約5重量%の範囲で用いられる。

【0035】有機溶媒を除去する方法としては、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、プロペラ型攪拌機またはマグネチックスターラーや超音波発生装置などで攪拌しながら常圧もしくは徐々に減圧にして有機溶媒を蒸発させる方法、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法、透析膜を用いて徐々に有機溶媒を除去する方法などが挙げられる。このようにして得られたマイクロスフェアは遠心分離または濾過して分取した後、マイクロスフェアの表面に付着している遊離の生理活性物質またはその塩またはその塩、薬物保持物質、乳化剤などを蒸留水で数回繰り返し洗浄し、再び蒸留水などに分散して凍結乾燥する。製造工程中、粒子同士の凝集を防ぐために凝集防止剤を加えてもよい。該凝集防止剤としては、例えば、マンニトール、ラクトース、ブドウ糖、デンプン類（例、コーンスターチ等）などの水溶性多糖、グリシンなどのアミノ酸、フィブリン、コラーゲンなどのタンパク質などが用いられる。なかでも、マンニトールが好適である。マンニトール等の凝集防止剤の添加量は、マイクロスフェア全体に対して、通常0～約24重量%である。

【0036】また、凍結乾燥後、必要であれば、減圧下マイクロスフェア同士が融着しない条件内で加温してマイクロスフェア中の水分および有機溶媒の除去を行ってもよい。好ましくは、毎分10～20℃の昇温速度の条件下で示差走査熱量計で求めた高分子重合体の中間点ガラス転移温度よりも若干高い温度で加温する。より好ましくは高分子重合体の中間点ガラス転移温度からこれより約30℃高い温度範囲内で加温する。とりわけ、乳酸重合体として乳酸-グリコール酸重合体を用いる場合には好ましくはその中間点ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より10℃高い温度範囲、さらに好ましくは、中間点ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より5℃高い温度範囲で加温する。加温時間はマイクロスフェアの量などによって異なるものの、一般的にはマイクロスフェア自体が所定の温度に達した後、約12時間～約168時間、好ましくは約24時間～約120時間、特に好ましくは約48時間～約96時間である。加温方法は、マイクロスフェアの集合が均一に加温できる方法であれば特に限定されない。該加温乾燥方法としては、例えば、恒温槽、流動槽、移動槽またはキルン中で加温乾燥する方法、マイクロ波で加温乾燥する方法などが用いられる。このなかで恒温槽中で加温乾燥する方法が好ましい。

【0037】本発明の製造法で得られる本発明のマイクロスフェアは、溶液に分散させることができる注射可能な球状の微粒子のことをいう。その形態の確認は、例えば、走査型電子顕微鏡による観察で行うことができる。

マイクロスフェアとしては、マイクロカプセルやマイクロパーティクルなどが用いられるが、マイクロカプセルが好ましい。本発明のマイクロスフェアにおける生理活性物質またはその塩の重量比は、生理活性物質またはその塩の種類、所望の薬理効果および効果の持続期間などによって異なるが、マイクロスフェア全体に対して、生理活性ペプチドまたはその塩の場合、約0.001～約50重量%、好ましくは約0.02～約40重量%、より好ましくは約0.1～約30重量%、さらに好ましくは約0.1～約24重量%、最も好ましくは約3～約24重量%であり、非ペプチド性生理活性物質またはその塩の場合、約0.01～約80重量%、好ましくは約0.1～約50重量%である。本発明のマイクロスフェアにおける高分子重合体の重量比は、マイクロスフェア全体に対して、約50～約100重量%、好ましくは約70～約100重量%、より好ましくは約85～約95重量%である。本発明のマイクロスフェアにおける薬物保持物質の重量比は、マイクロスフェア全体に対して、約0.01～約50重量%、好ましくは約0.1～約30重量%、より好ましくは約5～約15重量%である。本発明のマイクロスフェアは表面の小孔が少ない、注射剤用懸濁液などへの分散性が優れている。このように本発明のマイクロスフェアは分散性に優れているため、注射剤用懸濁液などに多量のマイクロスフェアを懸濁することができる。したがって、マイクロスフェア中にヒドロキシナフトエ酸などの薬物保持物質を含有してなくても、結果的に、注射剤用懸濁液に多量の生理活性物質またはその塩を含有せしめることができる。

【0038】本発明のマイクロスフェアは、そのまままたはこれらを原料物質として種々の剤形に製剤化し、筋肉内、皮下、臓器などへの注射剤または埋め込み剤、鼻腔、直腸、子宮などへの経粘膜剤、経口剤（例、カプセル剤（例、硬カプセル剤、軟カプセル剤等）、顆粒剤、散剤等の固形製剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等の液剤等）などとして投与することができる。例えば、本発明のマイクロスフェアを注射剤とするには、これらを分散剤（例、ツイーン（Tween）80、HCO-60等の界面活性剤、ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム等の多糖類など）、保存剤（例、メチルパラベン、プロピルパラベンなど）、等張化剤（例、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、ブドウ糖、プロリンなど）等の分散媒と共に水性懸濁剤とするか、ゴマ油、コーン油などの植物油等の分散媒と共に分散して油性懸濁剤として実際に使用できる徐放性注射剤とすることができる。本発明のマイクロスフェアの粒子径は、懸濁注射剤として使用する場合には、その分散度、通針性を満足する範囲であればよく、例えば、平均粒子径として約0.1～300μm、好ましくは約0.5～150μmの範囲、さらに好ましくは約1から100μmの範囲である。本発明のマイクロスフェア

アを無菌製剤にするには、製造全工程を無菌にする方法、ガンマ線で滅菌する方法、防腐剤を添加する方法等が挙げられるが、特に限定されない。さらに、上記のマイクロスフェアの徐放性注射剤は、懸濁剤として、上記の組成以外に、賦形剤（たとえば、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、ブドウ糖など）を加えて、再分散した後、凍結乾燥もしくは噴霧乾燥して固型化し、用時に、注射用蒸留水あるいは適当な分散媒を加えると、より安定した徐放性注射剤が得られる。マイクロスフェアの徐放性注射剤にマンニトール等の賦形剤を添加する場合、賦形剤の含有量は注射剤全体に対して、約0～50重量%、好ましくは約1～20重量%である。マイクロスフェアの徐放性注射剤を用時、注射用蒸留水あるいは適当な分散媒に分散させる場合、マイクロスフェアの含有量は分散媒とマイクロスフェアの総量に対して、約1～80重量%、好ましくは約10～60重量%である。

【0039】本発明のマイクロスフェアを経口投与製剤にするには、自体公知の方法に従い、本発明のマイクロスフェアを例えば賦形剤（例、乳糖、白糖、デンプンなど）、崩壊剤（例、デンプン、炭酸カルシウムなど）、結合剤（例、デンプン、アラビアゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロースなど）または滑沢剤（例、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール6000など）などを添加して圧縮成形し、次いで必要により、味のマスクング、腸溶性あるいは持続性の目的のため自体公知の方法でコーティングすることにより経口投与製剤とすることができる。そのコーティング剤としては、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、ツイーン80、プルロニックF68、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシメチルセルロースアセテートサクシネート、オイドラギット（ローム社製、西ドイツ、メタアクリル酸・アクリル酸共重合）および酸化チタン、ベンガラ等の色素が用いられる。

【0040】本発明のマイクロスフェアを経鼻投与製剤とするには、自体公知の方法に従い、本発明方法により製造されたマイクロスフェアを固状、半固状または液状の経鼻投与剤とすることができる。たとえば、上記固状のものとしては、該マイクロスフェアをそのまま、あるいは賦形剤（例、グルコース、マンニトール、デンプン、微結晶セルロースなど）、増粘剤（例、天然ガム類、セルロース誘導体、アクリル酸重合体など）などを添加、混合して粉状の組成物とする。上記液状のものとしては、注射剤の場合とほとんど同様で、油性あるいは水性懸濁剤とする。半固状の場合は、水性または油性のゲル剤、あるいは軟膏状のものがよい。また、これらは

いずれも、pH調節剤（例、炭酸、リン酸、クエン酸、塩酸、水酸化ナトリウムなど）、防腐剤（例、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、塩化ベンザルコニウムなど）などを加えてもよい。

【0041】本発明のマイクロスフェアを坐剤とするには、自体公知の方法に従い、本発明方法により製造されたマイクロスフェアを油性または水性の固状、半固状あるいは液状の座剤とすることができる。上記組成物に用いる油性基剤としては、マイクロスフェアを溶解しないものであればよく、たとえば高級脂肪酸のグリセリド〔例、カカオ脂、ウイテプゾル類（ダイナマイトノーベル社）など〕、中級脂肪酸〔例、ミグリオール類（ダイナマイトノーベル社）など〕、あるいは植物油（例、ゴマ油、大豆油、綿実油など）などが挙げられる。また、水性基剤としては、たとえばポリエチレングリコール類、プロピレングリコール、水性ゲル基剤としては、たとえば天然ガム類、セルロース誘導体、ビニール重合体、アクリル酸重合体などが挙げられる。本発明のマイクロスフェアは、注射剤として用いることが好ましい。本発明の徐放性組成物中の本発明のマイクロスフェアの含有量は特に限定されないが、徐放性組成物の約70重量%以上含有することが好ましい。

【0042】本発明のマイクロスフェアは、低毒性であるので、哺乳動物（例、ヒト、牛、豚、犬、ネコ、マウス、ラット、ウサギ等）に対して安全な医薬などとして用いることができる。本発明のマイクロスフェアまたはその徐放性組成物の投与量は、主薬である生理活性物質またはその塩の種類と含量、剤形、生理活性物質またはその塩放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって種々異なるが、生理活性物質またはその塩の有効量であればよい。主薬である生理活性物質またはその塩の1回当たりの投与量としては、例えば、徐放性組成物が6ヵ月製剤である場合、好ましくは、成人1人当たり約0.01mg～10mg/kg体重の範囲、さらに好ましくは約0.05mg～5mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。1回当たりのマイクロスフェアの投与量は、成人1人当たり好ましくは、約0.05mg～50mg/kg体重の範囲、さらに好ましくは約0.1mg～30mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。投与回数は、数週間に1回、1か月に1回、または数ヵ月（例、3ヵ月、4ヵ月、6ヵ月など）に1回等、主薬である生理活性物質またはその塩の種類と含量、剤形、生理活性物質またはその塩放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって適宜選ぶことができる。

【0043】本発明のマイクロスフェアまたはその徐放性組成物は、含有する生理活性物質またはその塩の種類に応じて、種々の疾患などの予防・治療剤として用いることができるが、例えば、生理活性物質またはその塩がLH-RH誘導体である場合には、ホルモン依存性疾

患、特に性ホルモン依存性癌（例、前立腺癌、子宮癌、乳癌、下垂体腫瘍など）、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、月経困難症、無月経症、月経前症候群、多房性卵巣症候群等の性ホルモン依存性の疾患の予防・治療剤、アルツハイマー病や免疫不全等の疾患の予防・治療剤、および避妊（もしくは、その休薬後のリバウンド効果を利用した場合には、不妊症の予防・治療）剤などとして用いることができる。さらに、性ホルモン非依存性であるがLH-RH感受性である良性または悪性腫瘍などの予防・治療剤としても用いることができる。また本発明の分散性が改善されたマイクロスフェアの製造するために、生理活性物質またはその塩と高分子重合体を含む乳化物を水中乾燥する際に外水相において、浸透圧調節剤を使用することができる。

【0044】以下、参考例および実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

【0045】

【実施例】以下の参考例および実施例における重量平均分子量及び各重合体含有量は、単分散ポリスチレンを基準物質としてゲルパーミエーションクロマトグラフィー（GPC）で測定したポリスチレン換算の重量平均分子量及びそれから算出した各重合体含有量である。また、測定は全て高速GPC装置（東ソー（株）製；HLC-8120GPC）で行い、カラムはSuperH4000×2及びSuperH2000（何れも東ソー（株）製）を使用し、移動相としてテトラヒドロフランを流速0.6mL/minで使用した。尚、検出方法は示差屈折率によるものである。

【0046】参考例1 高分子量乳酸重合体の合成
脱水キシレン230mLに1.0mol/Lジエチル亜鉛ヘキサン溶液4.1mL、乳酸tert-ブチル1.35g及びDL-ラクチド230gを加え、120～130℃で約2時間重合反応させた。反応終了後、反応液にジクロロメタン120mLを注入し、トリフルオロ酢酸230mLを加え脱保護反応させた。反応終了後、反応液にジクロロメタン300mLを加えた後、該反応液をイソプロピルエーテル2800mL中に注ぎ、目的物を沈殿させ、次いでジクロロメタン/イソプロピルエーテルで再沈殿操作を繰り返し、重量平均分子量約40000

の乳酸重合体を得た。

【0047】参考例2

参考例1で得られた重合体をジクロロメタン600mLに溶解し、該溶液の液性が中性となるまで水洗した後、90%乳酸水溶液70gを添加し、40℃で反応させた。反応液中に溶解している重合体の重量平均分子量が約20,000となったところで室温まで冷却し、ジクロロメタン600mLを注入して反応を停止させ、反応液の液性が中性となるまで水洗した。水洗後、反応液を濃縮、乾燥させて乳酸重合体を得た。得られた乳酸重合体の末端カルボキシル基は重合体1g当たり約80μmolであり、重量平均分子量5000以下の重合体含有量は7.29重量%であった。

【0048】参考例3（1）

参考例1で得られた重合体をジクロロメタン600mLに溶解し、該溶液の液性が中性となるまで水洗した後、90%乳酸水溶液70gを添加し、40℃で反応させた。反応液中に溶解している重合体の重量平均分子量が約20,000となったところで室温まで冷却し、ジクロロメタン600mLを注入して反応を停止させ、反応液の液性が中性となるまで水洗した後、反応液をイソプロピルエーテル2800mL中に滴下し、目的とする乳酸重合体を沈殿させた。デカンテーションにより得られた沈殿物をジクロロメタン600mLに溶解した後、溶液を濃縮、乾燥して乳酸重合体160gを得た。得られた乳酸重合体の末端カルボキシル基量は重合体1g当たり約70μmolであった。また、使用した高分子量乳酸重合体の重量平均分子量、加水分解処理後の乳酸重合体の重量平均分子量、得られた目的の乳酸重合体の重量平均分子量及びその分子量分画を表1に示す。

【0049】参考例3（2）～（6）

参考例3（1）と同様な操作を行い、本発明の乳酸重合体を得た。使用した高分子量乳酸重合体の重量平均分子量、加水分解処理後の乳酸重合体の重量平均分子量、得られた目的の乳酸重合体の重量平均分子量及びその分子量分画を表1に併せて示す。

【0050】

【表1】

		参考例 3					
		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
高分子乳酸重合体のMw		40500	43600	40400	43300	38600	55000
加水分解後のMw		22200	22200	22700	22200	18600	27200
得られた乳酸重合体のMw		22900	22200	21900	22300	19400	28200
分子量	1~1000	0.03	0.07	0.00	0.01	0.08	0.04
分画	1~3000	0.95	1.12	0.87	0.09	1.45	0.62
(%)	1~5000	3.86	4.17	3.89	3.92	4.89	2.50

表1から明らかな如く、本発明の方法によって得られた本発明の乳酸重合体は、重量平均分子量5000以下の重合体含有量が約5重量%以下であり、重量平均分子量3000以下の重合体含有量が約1.5重量%以下であり、また重量平均分子量1000以下の重合体含有量が約0.1重量%以下であることが分かる。

【0051】比較例1

参考例3(1)と同様の方法で得られたDL-乳酸重合体(重量平均分子量21,400、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $76.1\mu\text{mol/g}$)205.5gをジクロロメタン354.3gで溶解した溶液を0.2 μm のフィルター(EMFLOW, DFA4201FRP)で加圧ろ過し、28.8℃に調節した。この有機溶媒溶液380.4gを量り取り、ペプチドAの酢酸塩16.11gを16.22gの蒸留水に溶解して55.4℃に加熱した水溶液と混合して1分間攪拌して粗乳化した後ミニミキサーを用い、10,150rpm、2分間の条件にて乳化しW/Oエマルションを形成した。次いでこのW/Oエマルションを18℃に冷却後に、予め18.7℃に調節しておいた0.1%(w/w)ポリビニルアルコール(EG-40、日本合成化学製)水溶液25リットル中に3分10秒で注入し、HOMOMIC LINE FLOW(特殊機化製)を用いて7,001rpmで攪拌しW/O/Wエマルションとした。このW/O/Wエマルションを約18.5℃で30分間温度調整し、その後2時間30分温度調整しないで攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散しないしは外水相中に拡散させ、油相を固化させた後、75 μm の目開きの篩を用いて篩過し、次いで遠心機(H-600S、国産遠心器製)を用いて2,000rpmで連続的にマイクロスフェアを沈降させて捕集した。捕集されたマイクロスフェアは少量の蒸留水に再分散し、90 μm の目開きの篩を用いて篩過した後マンニトール18.85gを添加して溶解した後凍結乾燥して粉末として得られた。マイクロスフェア粉末の質量回収量は117.6gで回収率としては68.54%であり、ペプチ

ドA含量は7.76%であった。得られたマイクロスフェアの電顕写真図を図1に示す。

【0052】実施例1

参考例3(1)と同様の方法で得られたDL-乳酸重合体(重量平均分子量21,400、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $76.1\mu\text{mol/g}$)205.4gをジクロロメタン354.4gで溶解した溶液を約30℃に温調した。この溶液380.5gを量り取り、酢酸リュープロレリン16.1gを16.2gの蒸留水に溶解して約55℃に加熱した水溶液と混合し、ミニミキサー(特殊機化製)を用いて乳化しW/O乳化物を形成した(回転数約10,000rpm)。次いでこのW/O乳化物を約18℃に冷却後、予め約18℃に温調しておいた0.1%(w/w)ポリビニルアルコール(EG-40、日本合成化学製)+1%マンニトール水溶液25リットル中に注入し、HOMOMIC LINE FLOW(特殊機化製)を用いて二次乳化しW/O/W乳化物とした(タービン回転数約7,000rpm、循環ポンプ回転数約2000rpm)。このW/O/W乳化物を約3時間水中乾燥し、75 μm の標準篩を用いて篩過し、次いで遠心機(H-600S、国産遠心器製)を用いて連続的にマイクロスフェアを沈降させて捕集した(回転数約2,000rpm、流量約600ml/min)。捕集されたマイクロスフェアは少量の蒸留水に再分散し、90 μm の標準篩を用いて篩過した後、マンニトール18.9gを添加し、凍結乾燥機(TRIOMASTER、共和真空製)で凍結乾燥して粉末(マイクロスフェア末)を得た。得られたマイクロスフェアの電顕写真図を図2に示す。

【0053】実験例1

比較例1及び実施例1で製造したマイクロスフェア末約660mgをコート9Pバイアルに秤量し、ゴム栓で施栓し、キャップでまき締めした。これに酢酸リュープロレリン用分散媒(5%マンニトール+1%カルメロースナトリウム+0.1%ポリソルベート80)1.5mLを加え、均一に分散される時間を計測した。分散操作は

酢酸リユープロレリンのバイアル製剤の使用説明書に記載の方法に準じ、振幅約7cm、振幅速度約30回/10秒で行った。結果を表2に示す。

〔表2〕

	比較例1	実施例1
分散時間	約2～4分	8～23秒

【0054】実験例2

比較例1及び実施例1で製造したマイクロスフェアC末約660mgを酢酸リユープロレリン用分散媒（分散液量：1.5mL）を充填した14φ型DPS（デュアルチャンバー プレフィルド シリンジ）に充填し、懸濁させ、均一に分散される時間を計測した。分散操作は酢酸リユープロレリンのDPS製剤の使用説明書に記載の方法に準じ、手のひらにタッピングして振幅約3cm、振幅速度約50回/10秒で行った。結果を表3に示す。

〔表3〕

	比較例1	実施例1
分散時間	約2～6分	20～46秒

【0055】

【発明の効果】本発明のマイクロスフェアは分散性に優れているので、注射用蒸留水などの分散媒に高濃度に分散することができる。

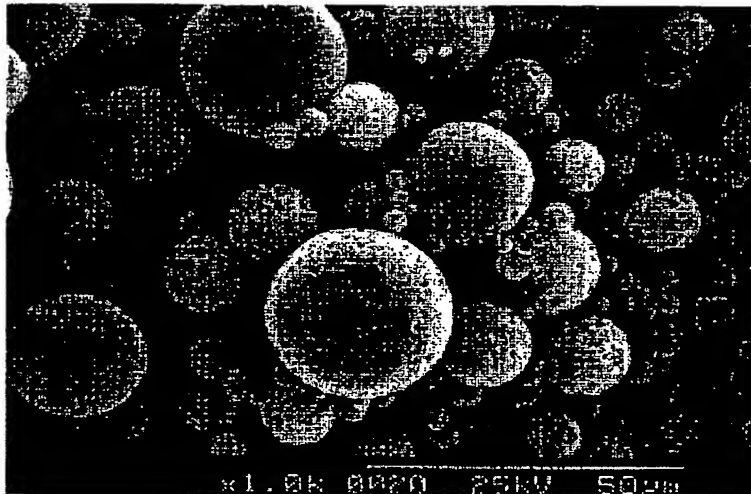
【0056】

【図面の簡単な説明】

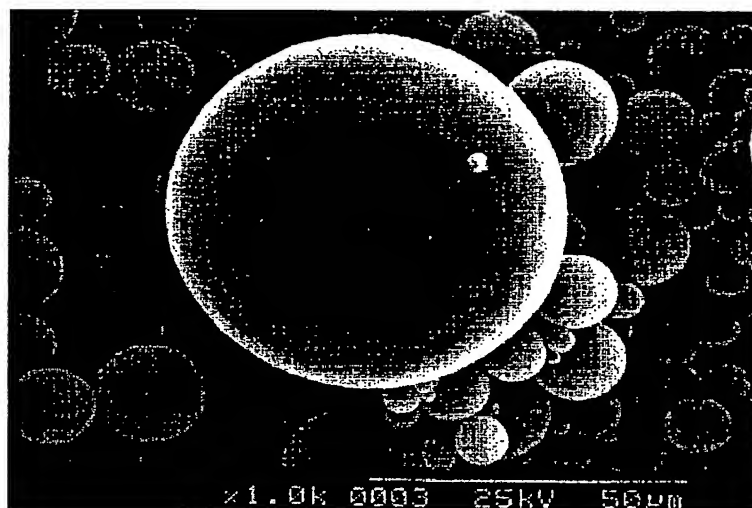
【図1】比較例1のマイクロスフェアの電顕写真図を示す。

【図2】実施例1のマイクロスフェアの電顕写真図を示す。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

タームコード (参考)

A 6 1 K 47/34
47/42
A 6 1 P 13/08
15/00
15/18
35/00

A 6 1 K 47/42
A 6 1 P 13/08
15/00
15/18
35/00
A 6 1 K 37/24

(72)発明者 荒井 次一

兵庫県神戸市東灘区本山南町9丁目8-45
-210号

F ターム (参考) 4C076 AA67 AA94 BB11 CC30 DD37

DD51 DD67 EE24 EE41 FF31
GG28 GG29

4C084 AA01 AA03 BA01 BA09 BA17
CA59 DB09 DB71 MA05 NA14
ZA812 ZA862 ZB262